



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE MEDICINA

TÍTULO

**Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis*
“romero” sobre *Staphylococcus aureus* comparado con oxacilina**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO CIRUJANO

AUTOR

FIGUEROA DÍAZ, BRIGITH PAOLA

ASESORES

Dra. MARÍA ROCÍO DEL PILAR LLAQUE SÁNCHEZ

MG. Blgo. JAIME POLO GAMBOA

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

Enfermedades infecciosas y tropicales

Trujillo – Perú

2018

DEDICATORIA

A mis padres, Luis Jhony Figueroa Diestra e Irma Teresa Díaz Díaz, por ser el eje fundamental de mi existencia y el desarrollo de lo que soy, en toda mi educación, tanto académica como de la vida, y por su apoyo incondicional mantenido a través del tiempo. Gracias de corazón por todas las oportunidades que me han brindado.

A mi hermana, Cindy Stephany Figueroa Díaz, que nunca dudó para ayudarme y apoyarme en todo momento. Gracias por tu tiempo, tus consejos, tu apoyo incondicional y tu cariño.

A mis abuelitos, Sebastián Díaz (QEPD), Rosa Díaz (QEPD), Eloy Figueroa y Teresa Diestra, por apoyarme siempre y anhelar tanto el cumplimiento de mis sueños como lo deseo yo misma.

Figueroa Díaz, Brigith Paola

AGRADECIMIENTO

A los docentes, personas de gran sabiduría quienes se han esforzado por ayudarme a llegar al punto en el que me encuentro, a través del compartir de sus conocimientos y las ganas de dedicación que los ha regido, he logrado importantes objetivos, siendo el mayor de ellos la culminación del desarrollo de mi tesis con éxito y obtener una afable titulación profesional.

A los asesores, por su dirección, paciencia, entrega y valiosos consejos que me permitieron alcanzar los objetivos de esta tesis y aprender mucho más que lo estudiado en el proyecto.

A la Universidad César Vallejo, institución que me brindó la oportunidad de realizar mis estudios académicos, recibiendo siempre el apoyo necesario para concluir de manera exitosa mi carrera y poder servir en un futuro a la sociedad.

A Dios, por darme la oportunidad de vivir y por guiar cada paso que doy, por alentar mi corazón e iluminar mi mente y por haber colocado en mi camino a personas maravillosas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

Figueroa Díaz, Brigith Paola

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, BRIGITH PAOLA FIGUEROA DÍAZ con DNI 73709423, estudiante de la Escuela Profesional de Medicina Humana de la Facultad de Ciencias Médicas, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, declaro bajo juramento que todos los datos e información que acompañan a la Tesis titulada **“Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “romero” sobre *Staphylococcus aureus* comparado con oxacilina”**, son:

1. De mi autoría.
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas; por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido autoplagiada; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados ni copiados y por lo tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

Figueroa Díaz, Brigith Paola

Trujillo, diciembre del 2018.

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada: **“Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “romero” sobre *Staphylococcus aureus* comparado con oxacilina”**, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Médico Cirujano.

La Autora.

ÍNDICE

PÁGINAS PRELIMINARES

Página del Jurado.....	i
Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento.....	iii
Declaratoria de autenticidad.....	iv
Presentación.....	v
Índice.....	vi
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Realidad problemática.....	1
1.2 Trabajos previos.....	2
1.3 Teorías relacionadas al tema.....	3
1.4 Formulación del problema.....	6
1.5 Justificación del estudio.....	6
1.6 Hipótesis.....	7
1.7 Objetivos.....	8
II. MÉTODO.....	9
2.1 Diseño de investigación.....	9
2.2 Variables, operacionalización.....	10
2.3 Población y muestra.....	11
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.....	12
2.5 Métodos de análisis de datos.....	13
2.6 Aspectos éticos.....	13
III. RESULTADOS.....	14
IV. DISCUSIÓN.....	18
V. CONCLUSIONES.....	20
VI. RECOMENDACIONES.....	21
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22
VIII. ANEXOS.....	25

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar si el aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* “romero” tuvo efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) comparado con oxacilina a 30 µg. en un estudio in vitro. Se realizaron 4 diluciones (100%,75%,50% y 25%) comparándose con oxacilina 30 µg y un control neutro con DMSO; se realizaron 10 repeticiones por cada grupo de estudio. Se obtuvo que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “romero” “mostró halos de inhibición al 100%: 8.20 mm (DS: 1.229 ± 0.389 , IC 95%: 7 - 10), sin embargo no superó el halo de inhibición de oxacilina: 30.30mm (DS: 1.567 ± 0.496 , IC 95%: 29 - 34).Se obtuvo también halos inhibitorios a las concentraciones del 75%: 7.40 mm (DS: 0.516 ± 0.163 , IC 95%: 7 - 8), 50%: 6.30 mm (DS: 2.312 ± 0.731 , IC 95%: 0 - 8), 25%: 2.80 mm (DS 3.615 ± 1.143 , IC 95%: 0 - 7), pero no fueron mayores que el patrón dado por el CLSI. Se observa que a mayor concentración el halo inhibitorio aumenta. Se concluye que el aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* “romero” si tiene efecto antibacteriano pero menor que oxacilina, pudiendo utilizarse como un medicamento coadyuvante en el tratamiento de *Staphylococcus aureus*.

Palabras claves: *Rosmarinus officinalis*, *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

The objective of the study was to determine whether the essential oil of the leaves of *Rosmarinus officinalis* "rosemary" had an antibacterial effect on strains of *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) compared with oxacillin at 30 µg. in an in vitro study. Four dilutions were made (100%, 75%, 50% and 25%) comparing oxacillin 30 µg and a neutral control with DMSO; 10 repetitions were performed for each study group. It was obtained that the essential oil of *Rosmarinus officinalis* "rosemary" "showed haloes of 100% inhibition: 8.20 mm (DS: 1.229 ± 0.389 , 95% CI: 7-10), however it did not exceed the inhibition halo of oxacillin: 30.30mm (SD: 1567 ± 0.496 , 95% CI: 29-34). Inhibitory haloes were also obtained at concentrations of 75%: 7.40 mm (DS: 0.516 ± 0.163 , 95% CI: 7-8), 50%: 6.30 mm (DS: 2.312 ± 0.731 , 95% CI: 0 - 8), 25%: 2.80 mm (SD 3.615 ± 1.143 , 95% CI: 0 - 7), but were not greater than the pattern given by the CLSI . It is observed that at higher concentration the inhibitory halo increases. It is concluded that the essential oil of the leaves of *Rosmarinus officinalis* "rosemary" if it has antibacterial effect, being able to be used as a coadjuvant medication in the treatment of *Staphylococcus aureus*.

Key words: *Rosmarinus officinalis*, *Staphylococcus aureus*.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 REALIDAD PROBLEMÁTICA

En la actualidad el ser humano a través del órgano más extenso que posee como es la piel, principal barrera protectora del organismo, está más en contacto con el medio ambiente; pero no de la manera en que debería, puesto que muchas veces son las propias acciones del hombre que hacen que esta barrera esté más propensa a contraer microorganismos. Si bien muchos microorganismos cumplen un rol muy importante en nuestro planeta, sin embargo, su acumulación puede generar infecciones muy perjudiciales para la salud de todas las personas. Uno de los más comunes es el *Staphylococcus aureus*, anaerobio grampositivo y más agresivo que provoca graves infecciones en la piel con un alto grado de severidad, desde infecciones locales hasta muy invasoras y mortales ¹.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en el último reporte del año 2014 consideró que este patógeno de amplia distribución es una gran amenaza para la salud a nivel mundial, donde la incidencia de las infecciones en la piel por *Staphylococcus aureus* fue un 60% en la comunidad europea, África (80%), Asia (25%), Latinoamérica (90%) y específicamente en el Perú (62%) ².

El tratamiento de elección más utilizado es la oxacilina, antibiótico bactericida resistente, de la familia de las penicilinas, inhibiendo la proliferación de microorganismos, con la ventaja de tener pocos efectos secundarios ³. Así mismo, existe un método alternativo como es la fitoterapia, entre ellas tenemos: *Rosmarinus officinalis* “romero”, que significa “arbusto marino”, pertenece a la familia lamiaceae, cuya altura varía entre: 0.5 – 1 metro con aspecto de espigas, posee brácteas angostas y cortas de color verdoso y flores de color azul. Tiene diversos compuestos químicos: ácidos fenólicos, flavonoides, ácidos triterpénicos y rosmarínico, que posee una actividad antibacteriana, antiparasitaria y antiinflamatoria; lo cual facilitan su utilización con fines terapéuticos, aromáticos, dietéticos o gastronómicos. Por otro parte es fácil de sembrarse y se reproduce con viabilidad en otros lugares ⁴.

1.2 TRABAJOS PREVIOS

Hameed B. et al. (Iraq – 2015), analizaron los aceites esenciales de *Syzygium aromaticum* (yema de clavo) y *Rosmarinus officinalis* L. (romero) obtenidos por hidro-destilación. Observaron el efecto antimicrobiano de ambos aceites a través de un proceso de difusión de pozos de agar frente a cuatro microorganismos que son resistentes a diversos fármacos, como *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterococcus Faecalis*. Los aceites esenciales mostraron efectos inhibitorios respecto a todos los microorganismos estudiados; y demostraron que el aceite esencial del romero presentó un halo de inhibición: 16.8 -23.2 mm (concentración del 5%), el aceite del clavo (halo de inhibición: 16.4 – 19.6 mm al 5%). Plantearon que los aceites esenciales podían ser utilizados como agentes antibacterianos naturales para atender y curar infecciones ocasionadas por bacterias multirresistentes.⁵

Jarrar N. et al. (Palestina – 2010), estudiaron las actividades tanto inhibitorias como bactericidas de la fusión. Del extracto de etanol del “*Rosmarinus officinalis* L. mezclado con ceforuxima sobre el *Staphylococcus aureus* resistente a la metilicina (MRSA). Obtuvieron, que las concentraciones mínimas inhibitorias (CIM) del preparado del romero estaban entre el rango de 0,39-3,13 mg/ml, mientras que, las concentraciones bactericidas mínimas (MBCs) eran regularmente iguales o dobles a las (CIM). El efecto antimicrobiano de las mezclas del extracto de etanol de romero más cefuroxima mostró sus actividades sinérgicas en contra de todos los MRSA. Concluyeron que el romero cumple un rol fundamental en la elevación de la sensibilidad a β -lactamas.⁶

Castaño H. et al. (Colombia – 2010), demostraron la actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* contra cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, con halos de inhibición de 17 mm y 18-21 mm, respectivamente. Concluyeron que existió una mayor sensibilidad y espectro de inhibición en las bacterias Gram negativas frente a las Gram positivas.⁷

Hussain A. et. al. (2010). Evaluaron la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* por el método de difusión en disco (15 µL) contra cepas de *Staphylococcus aureus* (NCTC 6571), *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *B. subtilis* (NCTC 10400), *Bacillus pumilis* (tipo salvaje), *Pseudomonas aeruginosa* (NCTC 1662), *Salmonella Poona* (NCTC 4840), *Escherichia coli* (ATCC 8739) y ampicilina resistentes *Escherichia coli* (NCTC 10418). Encontrando zonas de inhibición de 22.0, 24.2, 23.0, 18.0, 17.0, 17.5, 14.3, 12.8 mm respectivamente. La actividad de ciprofloxacino (25 µg/disco) siempre fue en un 20 % a 50 % mayor que el del aceite esencial. Concluyeron que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* posee muy buenos potenciales antibacterianos y antiproliferativos, así como una considerable actividad antioxidante.⁸

1.3. TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA

La medicina complementaria se ha convertido en un elemento clave para la atención de la salud en muchos países, no siendo la excepción el Perú, país de diversidad cultural, sin embargo existe polémica con la denominación de las materias como “medicina tradicional”, “medicina alternativa” o “medicina complementaria”, pudiendo ser definidas como sinónimos o como si fueran diferentes especialidades. Si bien es cierto, pueden ser denominadas y definidas de muchas maneras, sigue conservando la finalidad de llevar a cada persona a vencer la patología que padece y conseguir una actitud de completa tranquilidad y paz.⁹

Uno de los más graves problemas de salud de nuestra sociedad son las infecciones, siendo preferentemente el órgano más afectado la piel, por estar constantemente en contacto con diferentes gérmenes del medio externo e interno; sin embargo, nuestro organismo está preparado para combatirlas, constituyendo así la piel una barrera notablemente eficaz contra las infecciones bacterianas, colocando resistencia a la invasión pero de manera equilibrada, a pesar de ello se puede infectar bajo algunas condiciones, como: presencia de bacterias patógenas, resistencia natural de la piel y poca o falta capacidad de defensa del huésped frente a una invasión bacteriana.¹⁰

Muchos tipos de bacterias pueden infectar la piel, localizados mayormente en la epidermis, dermis, tejido celular subcutáneo, incluyendo también a los anexos cutáneos. Las más comunes son del género *Staphylococcus*, y dentro de ella la especie *Staphylococcus aureus*, considerada una de las más peligrosas de todos los tipos, la transmisión de este microorganismo ocurre generalmente por contacto o diseminación de partículas gruesas y muchas veces las infecciones menores pueden ser la fuente de diseminación de la enfermedad, el desarrollo de esta se debe principalmente a la resistencia del huésped y la virulencia del organismo, por ello, todo lo que provoque un daño en la barrera mucosa cutánea aumenta el riesgo de infección.¹⁰

Por todo lo mencionado anteriormente, los profesionales médicos atienden este tipo de enfermedad lo más rápido posible, dándole un tratamiento específico y eficaz para dichas infecciones. La decisión que deben tomar para tratar estas patologías y prescribir el mejor fármaco, implica considerar patrones de resistencia de los estafilococos que van cambiando con el paso del tiempo. El tratamiento más utilizado en nuestro medio es la oxacilina, antibiótico activo frente a bacterias grampositivas, como es el caso del género de *Staphylococcus*, la absorción es eficaz cuando se ingiere con el estómago vacío (1 hora antes o 2 horas después de los alimentos) y son excretadas por la orina en mayor cantidad y en menor proporción por la bilis, sin embargo, su uso indiscriminado motiva la aparición de cepas resistentes y reacciones adversas muy tóxicas, reduciendo así la eficacia del tratamiento y por ende, la infección permanece por mucho más tiempo y se corre el riesgo de contagiar a otras personas. ¹¹

Por eso, hoy en día, es necesario acudir a la medicina complementaria y utilizar sus principales recursos como son las plantas medicinales que pueden sustituir eficazmente a los fármacos más comunes, como es el caso de *Rosmarinus officinal* / “romero”, considerado un “antibiótico natural” que nos ayuda a combatir las infecciones cutáneas, perteneciente de la familia: Labiateae, subarbusto aromático, arisco con beneficio medicinal con 0.5 a 1 metro de altura, ramificado y boscoso; cuyos principios activos se solidifican en las hojas, cuyos bordes son de forma cilíndricas. ⁴

El florecimiento perdura cerca de todo el año y genera flores labiadas que se hallan en las axilas de sus hojas aglomeradas en ramificaciones densas. La corolla es de color azulino, blanco o rosado, habiendo en su interior manchas de coloración amoratada y está compuesta por 2 estambres corcovados que se encuentran soldados a la corolla y poseen un diminutivo diente. Dichas flores exhiben 2 labios bien acentuados (superior: 2 lóbulos e inferior: 3 lóbulos), siendo el intermedio hundido y largo. Y su fruto comprende de cuatro aquenios de color pardusco. ¹³

La planta contiene entre un 1 y 3% de aceites esenciales, que se extraen de las flores y brácteas del romero mediante procesos de destilación y disolución, siendo los componentes mayoritarios en su composición: 1,8 cineol (21,5%), alcanfor (18,0%), alfa pineno (15,3%) y en un porcentaje menor de canfeno (5,7%), mirceno (4,9%), limoneno (3,7%), borneol (3,7%) y cariofileno (3,4%).¹³

Las principales moléculas antibacteriales del aceite esencial del “romero” son el 1,8 cineol y el borneol, quienes cruzarán las membranas biológicas de las bacterias y así, al interrumpir el metabolismo celular afectarán a las funciones vitales de la bacteria como la respiración o incluso el equilibrio iónico de la célula, ejerciendo así la actividad bactericida, es decir, limitando el desarrollo y la multiplicación de las bacterias.¹³

Los efectos secundarios de los aceites esenciales del “romero” son que en altas dosis puede provocar cefalea y espasmos musculares, por otro lado, usado vía externa puede provocar rubefacción dérmica (enrojecimiento de la piel). Además, es importante informar que el consumo de romero no se recomienda durante el embarazo, pues en grandes dosis puede provocar aborto involuntario.¹³

1.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿El aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* “romero” tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) comparado con oxacilina a 30 microgramos (μg), en un estudio in vitro?

1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Las infecciones cutáneas bacterianas representan el diagnóstico dermatológico más frecuente, causadas por bacterias piógenas, principalmente por la cepa más peligrosa que es *Staphylococcus aureus*.¹ Ante este contexto y agregándose el aumento de la resistencia de antimicrobianos, es necesario reforzar el tratamiento convencional con una de las prácticas más comunes de la medicina complementaria, que ha adquirido mucha importancia por su gran utilidad en la salud de las personas como es la fitoterapia, base de la presente investigación, a través de la extracción del aceite esencial de las hojas de “romero”, compuesto por una gran y rica fuente de sustancias quimioterapéuticas, mostrando escaso efecto tóxico y de gran acceso a la población; campo en el cual se sustenta el presente trabajo, con el fin de dar otra alternativa eficaz en el campo tradicional del tratamiento de las infecciones cutáneas bacterianas a través de la validación científica de la propiedad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* “romero” contra las cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC25923), razón que impulsa la ejecución y posterior cambio de perspectiva, en donde se integre todas las medicinas para un manejo integral del paciente, cubriendo de esta forma las necesidades de nuestra población.

1.6. HIPÓTESIS

H1: El aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* “romero” tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC25923 comparado con oxacilina a 30 µg, en un estudio in vitro.

H0: El aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* “romero” no tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC25923 comparado con oxacilina a 30 microgramos µg, en un estudio in vitro.

1.7. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Evaluar si el aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* “romero” tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) comparado con oxacilina a 30 µg, en un estudio in vitro.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Se determinó el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* a una concentración del 100%.
- Se determinó el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* a una concentración del 75%
- Se determinó el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* a una concentración del 50%.
- Se determinó el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* a una concentración del 25%.
- Se determinó el efecto antibacteriano de la oxacilina a 30 µg.

II. MÉTODO

2.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN Y TIPO DE INVESTIGACIÓN:

TIPO DE INVESTIGACIÓN: Básico

DISEÑO DE INVESTIGACIÓN: Experimental con repeticiones múltiples con post prueba.

RG1	X1	O1
RG2	X2	O2
RG3	X3	O3
RG4	X4	O4
RG5	X5	O5
RG6	X6	O6

Donde:

RG: Grupos de estudio

X1: Aceite esencial de la hoja de *Rosmarinus officinalis* “romero” al 100%

X2: Aceite esencial de la hoja de *Rosmarinus officinalis* “romero” al 75%

X3: Aceite esencial de la hoja de *Rosmarinus officinalis* “romero” al 50%

X4: Aceite esencial de la hoja de *Rosmarinus officinalis* “romero” al 25%

X5: Control positivo: Oxacilina a 30 microgramos

X6: Control negativo: Solución salina

O: Las observaciones del diámetro del halo de inhibición

2.2. VARIABLES Y OPERALIZACIÓN

Variable Independiente: Agente antibacteriano

- a) No farmacológico: Aceite esencial de la hoja de *Rosmarinus officinalis*
- b) Farmacológico: Oxacilina a 30 microgramos.

Variable Dependiente: Efecto antibacteriano

- a) Eficacia: Aumento del halo de inhibición ≥ 22 mm.¹⁴
- b) No eficaz: Disminución del halo de inhibición ≤ 21 mm.¹⁴

Operacionalización de variables:

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
V. I: Agente antibacteriano	Principio activo que inhibe el crecimiento bacteriano.	La población se dividió en los siguientes 6 grupos: a) Aceite al 100% b) Aceite al 75% c) Aceite al 50% d) Aceite al 25% e) Oxacilina f) Solución salina	RG1 RG2 RG3 RG4 RG5 RG6	Cualitativa nominal
V. D: Efecto antibacteriano	Se midió mediante el incremento del halo de inhibición, mediante el método Kirby Bauer.	Según la técnica se consideró: a) Sensible: ≥ 22 mm ¹⁴ b) Resistente: ≤ 21 mm ¹⁴	Eficaz (≥ 22 mm) No eficaz (<22mm)	Cualitativa nominal

2.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

POBLACIÓN: Estuvo constituida por placas Petri con Agar Muller Hinton-sangre, con diversas concentraciones del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* con siembra adecuada de *Staphylococcus aureus* (ATCC25923), en el laboratorio de Microbiología de la Escuela de Medicina de la Universidad César Vallejo en el año 2018. ¹⁵

MUESTRA:

Tamaño de muestra: Por tratarse de un trabajo experimental se empleó la formula estadística de diferencia de promedio sobre halos de inhibición, para hallar el número de placas necesarias que validen la investigación se consideró 10 repeticiones por cada grupo a experimentar. ^{5.14} **(Anexo n°1)**

Unidad de análisis: Formado por cada colonia sembrado en las placas Petri con las cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC25923).

Unidad de muestra: Cada placa Petri en el cual estuvo los cultivos con cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC25923).

Muestreo: Se trabajó con todas las cepas cultivadas en las placas Petri.

CRITERIOS DE SELECCIÓN:

Criterios de inclusión:

- Placas con siembra apropiada de *Staphylococcus aureus* (3×10^8 UFC/mL) previa a la exposición con el aceite esencial del *Rosmarinus officinalis*.

Criterios de exclusión:

- Se excluyó a las placas que luego del período de incubación, se contaminaron por diferentes tipos de microorganismos y/o no muestren crecimiento bacteriano.

2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD

LA TÉCNICA: En el proyecto de investigación tuvo como técnica la observación del crecimiento bacteriano en las placas Petri de cultivo.

PROCEDIMIENTO: Se siguió los siguientes pasos: **(Anexo n°2)**

- a. Identificación taxonómica de la planta por la UPAO
- b. Extracción del aceite esencial con el método de destilación por arrastre de vapor de agua.¹⁴
- c. Técnica de cultivo según el método de Disco Difusión.¹⁴
- d. Prueba de sensibilidad.¹⁴

INSTRUMENTO:

Se observó la ficha de recojo de información donde se describió el número de placas Petri a utilizarse, diluciones y la medición de los halos de inhibición (mm).¹⁴ **(Anexo n°3)**

VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO

Se realizó por tres profesionales de salud (médico, biólogos) que garantizaron que los datos recolectados cumplieron con los criterios de evaluación y el logro de los objetivos del estudio. **(Anexo n°4)**

2.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS

Los datos de los halos de inhibición (mm) de los cultivos fueron analizados en el programa SPSS versión 25. Se aplicó las pruebas estadísticas: la prueba de varianza unidireccional (ANOVA) y post ANOVA de Tukey para precisar las disimilitudes significativas de cada diseño experimental en relación del grupo control.

2.6. ASPECTOS ÉTICOS:

Para garantizar la atención apropiada a los elementos que podrían perjudicar el medioambiente, se tuvo presente el manejo adecuado de procedimientos propios del experimento y de la eliminación de desechos de las muestras sobretodo de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, según las normas del manual de Bioseguridad¹⁶ en Laboratorios de Microbiología y Medicina durante el transcurso del desarrollo del trabajo de investigación.

La autorización se dio por el comité permanente de investigación de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad César Vallejo, se consideró también los principios de la declaración de Helsinki de la asociación mundial, 64^{ava} Asamblea general¹⁷ y los reglamentos descritos del Ministerio de Salud del Perú (MINSA).¹⁶

III. RESULTADOS

Tabla 1. Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* “romero” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) comparado con oxacilina a 30 microgramos (μg), en un estudio in vitro

Datos Descriptivos

	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
100%	10	8.20	1.229	0.389	7.32	9.08	7	10
75%	10	7.40	0.516	0.163	7.03	7.77	7	8
50%	10	6.30	2.312	0.731	4.65	7.95	0	8
25%	10	2.80	3.615	1.143	0.21	5.39	0	7
Oxacilina	10	30.30	1.567	0.496	29.18	31.42	29	34
Total	50	11.00	10.132	1.433	8.12	13.88	0	34

Fuente: reporte de resultados SPSS Versión 25

Tabla 2. Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* “romero” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) comparado con oxacilina a 30 microgramos (μg), en un estudio in vitro

Análisis de Varianza (ANOVA)

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	4826.200	4	1206.550	266.412	0.000
Dentro de grupos	203.800	45	4.529		
Total	5030.000	49			

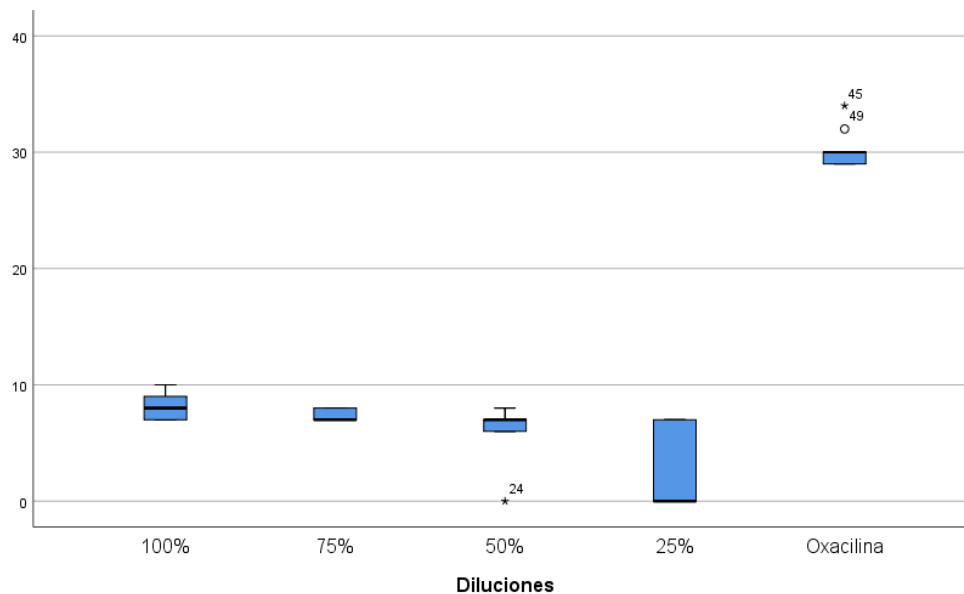
Fuente: reporte de resultados SPSS Versión 25

Tabla 3. Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* “romero” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) comparado con oxacilina a 30 microgramos (μg), en un estudio in vitro

ANÁLISIS DE HOMOGENEIDAD DE LOS DATOS: TUKEY

Diluciones	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
25%	10	2.80		
50%	10		6.30	
75%	10		7.40	
100%	10		8.20	
Oxacilina	10			30.30
Sig.		1.000	0.284	1.000
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.				
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10.000.				

Fuente: reporte de resultados SPSS Versión 25



Fuente: reporte de resultados SPSS Versión 25

Gráfico 1: Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* “romero” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) comparado con oxacilina a 30 microgramos (μg), en un estudio in vitro

IV. DISCUSIÓN

La presente investigación permitió evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* “romero”, sobre cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) comparado con oxacilina a 30 microgramos (μg), en un estudio in vitro empleando diferentes concentraciones: 25%, 50%, 75% y 100%, utilizando el método de difusión de discos.

En la **tabla 1**, proporcionó datos descriptivos sobre el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* “romero”, sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), evidenciándose que la media de las diferentes concentraciones 50%, 75% y 100% va entre 6.30, 7.40 y 8.20 respectivamente, siendo el mayor halo inhibitorio la dilución del 100% ($\text{DS}.1.229 \pm 0.389$, IC al 95% 7.32 - 9.08, con un mínimo de 7.32 mm y máximo de 9.8 mm, considerándose como resistente según los criterios del CLSI ($<21\text{mm}$). La oxacilina presentó mayor halo de inhibición casi 4 veces mayor con una media de 30.30mm D.S (1.567 ± 0.496 , I.C 100% 29.18 - 31.42, ente los valores de 29 - 34 mm de halo de inhibición.

En la **tabla 2**, se realizó el análisis de los resultados mediante la prueba estadística ANOVA, encontrándose valor de significancia muy alta (0.000), rechazando la hipótesis nula y aceptándose la hipótesis alterna. Se evidencia que el aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* tiene efecto antibacteriano pero menor que oxacilina. Así mismo, **en la tabla 3**, la prueba de homogeneidad de Tukey mostró que los subgrupos del conjunto fueron homogéneos y que el mayor efecto antibacteriano lo obtuvo oxacilina. En la **gráfica 1**, se muestra un diagrama de cajas y bigotes la cual está representada por las medias de cada grupo de estudio, observándose mucho mejor las diferencias de los halos de inhibición de las diluciones del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis*, pero que no superan la media inhibitoria de la oxacilina.

El estudio determinó que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “romero” presentó resistencia antibacteriana, dichos resultados coinciden con solo un autor descrito anteriormente Castaño H. et al. ⁷ (18-21 mm mm). Pero también se cuenta con trabajos e investigaciones donde manifestaron que si existe actividad antibacteriana del aceite sobre la cepa anteriormente mencionada, así tenemos que Hameed B. et al ⁵, encontraron que el halo de inhibición era entre 16.8 - 23.2 mm, igual que el autor Hussain A. et. al ⁸ un halo promedio de 22 mm.

La variación en los resultados de los antecedentes exhibidos a pesar que se utilizó la misma cepa bacteriana, puede deberse al procedimiento de la destilación o técnica de las pruebas de sensibilidad. También a la zona donde fueron cultivadas y recolectadas las plantas que influyen en relación a la concentración de sus componentes químicos y biológicos que podrían estar afectando alguna de sus actividades medicinales en este caso acción bactericida.

V. CONCLUSIONES

- El aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* tiene poco efecto antibacteriano en relación a lo observado por la oxacilina comparado con los criterios de eficacia del CLSI (> 21 mm).
- El aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* comienza a mostrar mayor efecto antibacteriano a partir de las concentraciones del 50%, sin llegar a alcanzar el valor óptimo.
- El aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* mostró al 100% un halo inhibitorio de 6 mm.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar nuevos estudios de calidad de los aceites esenciales del género de *Rosmarinus* con recolección de muestras en distintos lugares de procedencia de nuestro país.
- Analizar la calidad y cantidad de los aceites esenciales de las hojas del género *Rosmarinus* con diversas temporadas de extracción.
- Ampliar el estudio a otras bacterias.
- Desarrollar estudios involucrando animales de experimentación como roedores.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Guillén R, Carpinelli L, Rodríguez F, Castro H, Quiñónez B, Campuzano A et. al. *Staphylococcus aureus* adquiridos en la comunidad: caracterización clínica, fenotípica y genotípica de aislados en niños paraguayos. Rev Chilena Infectol 2016; 33 (6): 609-618. (Citado: 12/08/2016). Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/rci/v33n6/art02.pdf>
2. Organización Mundial de la Salud (OMS). El primer informe mundial de la OMS sobre la resistencia a los antibióticos pone de manifiesto una grave amenaza para la salud pública en todo el mundo. Glenn Thomas WHO, Geneva. (Citado: 30/04/2014). Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/es/>
3. Salgado F, Arroyo A, Lozano A, Hidalgo A, Verdugo J. Infecciones de piel y partes blandas. Med Clin (España) 2009; 133 (14): 552-64. (Citado: 18/04/2009). Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-medicina-clinica-2-articulo-infecciones-piel-partes-blandas-S0025775308002431>
4. Ávila R, Navarro A, Vera O, Dávila R, Melgoza N, Meza R. Romero (Rosmarinus officinalis L.): una revisión de sus usos no culinarios. Ciencia y Mar (México) 2011, XV (43): 23-36. Disponible en: <http://www.umar.mx/revistas/43/0430103.pdf>
5. Hameed B, Faisal S, Jumaa W. A Comparative Study of the Antibacterial Activity of Clove and Rosemary Essential Oils on Multidrug Resistant Bacteria. UK Journal of Pharmaceutical and Biosciences (Iraq) 2015; 3 (1): 18-22. (Citado: 27/02/2015). Disponible en: http://ukjpb.com/pdf/UKJPB_SuperAdmin_73_93_1426556483.pdf

6. Jarrar N, Abu A, Adwan k. Antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L. alone and in combination with cefuroxime against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. [Asian Pacific Journal of Tropical Medicine](#) (Palestina) 2010; **3** (2): 121-123. (Citado: 02/2010). Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1995764510600491>

7. Castaño H, Ciro G, Zapata J, Jiménez S. Actividad bactericida del extracto etanólico y del aceite esencial de hojas de *Rosmarinus officinalis* L. sobre algunas bacterias de interés alimentario. *VITAE, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica* (Colombia) 2010; **17** (2): 149-154. (Citado: 10/06/2010). Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/1698/169815396006.pdf>

8. Hussain AL, Anwar F, Chatha SAS, Jabbar A, Mahboob S, Nigam PS. *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Brazilian Journal of Microbiology* 2010; **41**(4): 1070-1078. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822010000400027

9. Snyder, M., Lindquist R. *Terapias complementarias y alternativas en enfermería*. 6° Edición. México: D.F: Editorial El Manual Moderno; 2011. pp. 3-8.

10. Rodríguez E. *Medicina Natural: Retorno a nuestra esencia*. 2° Edición. Puerto Rico: Editorial de la Universidad de Puerto Rico; 2007. p. 14.

11. Harrison. *Infecciones de la piel*. *Principios de Medicina Interna*. 18° Edición. New York: Editorial McGraw-Hill Interamericana; 2012. p. 1064-1070.

12. Velásquez. Farmacología Básica y Clínica. 18° Edición. México D.F: Editorial Médica Panamericana; 2009. p. 805-824.
13. Mendiola, M., Moltabán J. Plantas aromáticas gastronómicas. Barcelona: Editorial Aedos; 2009. p 76-77. (14)
14. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. CLSI Supplement M100S. 19087 USA, 2016. [citado: 25 de May de 2017]. Disponible en: <http://ljzx.cqrmhospital.com/upfiles/201601/20160112155335884.pdf>
15. Ministerio de Salud del Perú. Instituto Nacional de Salud. Manual de Procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco de difusión. Serie de normas técnicas n°30. Perú: Lima; 2002. p 20-22.
16. Sistema de Gestión de la Calidad del Pronahebas, Ministerio de Salud (MINSA). Manual de Bioseguridad: Programa Nacional de Hemoterapia y Bancos de Sangre, 2004. norma técnica N° 015 - MINSA / DGSP - V.01. 2004. Perú. [citado: 2017 Jun 2]. Disponible en: (17) <http://www.minsa.gob.pe/dgsp/observatorio/documentos/infecciones/manual%20de%20bioseguridad.pdf>
17. Declaración de Helsinki de la AMM - Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. Brasil: Fortaleza; 2013. [Citado: Octubre del 2013]. Disponible en: <http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-investigacion/fd-evaluacion/fd-evaluacion-etica-investigacion/Declaracion-Helsinki-2013-Esp.pdf>

VIII. ANEXOS

ANEXO N°01

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

$$Z_{\frac{\alpha}{2}} = 1.96$$

$$Z_{\beta} = 0.84$$

$$\bar{x}_1 = 21 \text{ mm Diámetro del halo de inhibición de la Oxacilina.}^{14}$$

$$\bar{x}_2 = 25 \text{ mm Diámetro del halo de inhibición del Aceite esencial de } \textit{Rosmarinus officinalis}.^5$$

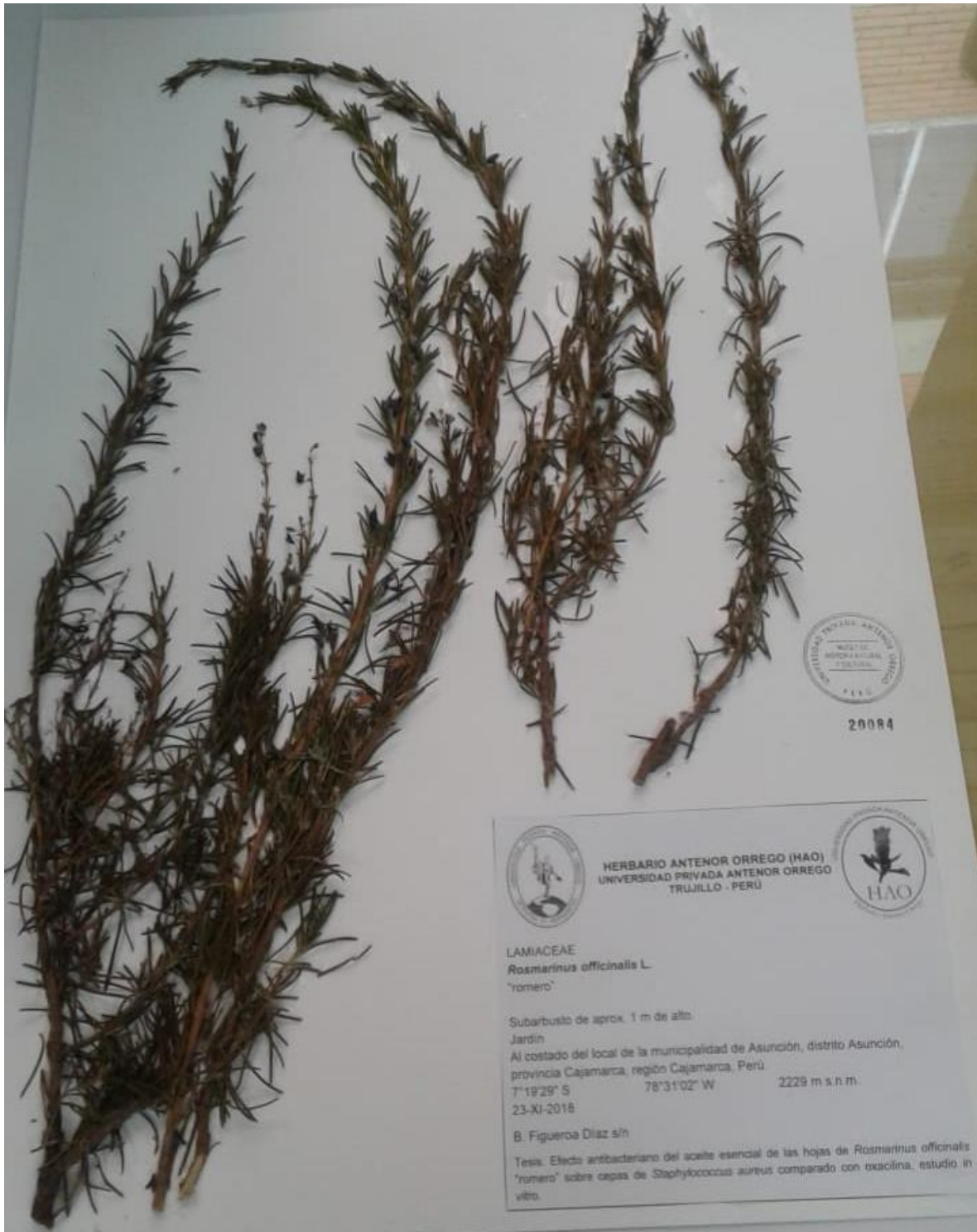
$$\sigma = 2.04$$

$$N = 10 \text{ (número de placas mínimas)}$$

Con estos datos se determinan una muestra de 10 repeticiones para cada grupo.

ANEXO N°02

a) Identificación taxonómica de la planta por la UPAO





UPAO

Museo de Historia Natural y Cultural

HERBARIO ANTENOR ORREGO (HAO)

CONSTANCIA N° 67-2018-HAO-UPAO

El que suscribe, Director del Museo de Historia Natural y Cultural de la Universidad Privada Antenor Orrego, deja:

CONSTANCIA

Que **Brigith Paola Figueroa Díaz**, estudiante de la carrera profesional de Medicina Humana de la Universidad César Vallejo, ha solicitado la determinación de material vegetal, el cual corresponde a la siguiente especie:

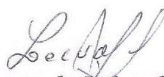
Rosmarinus officinalis L. (Lamiaceae)

El mismo que será utilizado para la tesis titulada: "Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* "romero" sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con oxacilina, estudio *in vitro*".

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines que correspondan.

Trujillo, 29 de noviembre de 2018




Mg. Segundo Leiva González
Director

Museo de Historia Natural y Cultural

b) Extracción del aceite esencial:

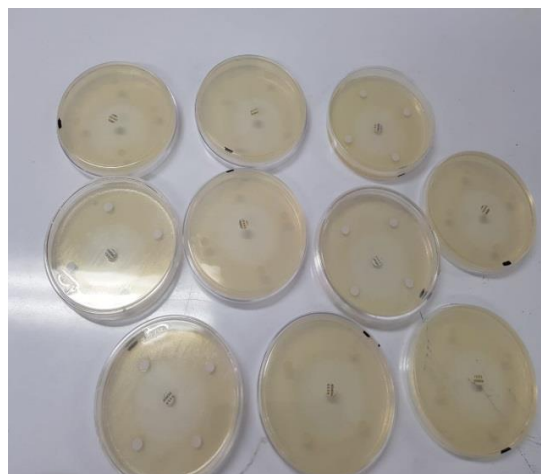
El aceite esencial de la hoja de *Rosmarinus officinalis* “romero” se obtuvo por el método de arrastre de vapor de agua; para ello, en un balón de 2 L se colocó 1,5 L de agua destilada y en un balón de 4 L se colocó la MS hasta que llenó las 3/4 partes del balón. Ambos balones se taparon herméticamente y estuvieron conectados a través de un ducto.



Al mismo tiempo el balón con la MS estuvo conectado a un condensador recto (refrigerante), el cual desembocó en un embudo decantador tipo pera. De tal modo que, el Balón con agua se calentó con una cocina eléctrica y el vapor de agua pasó a través del ducto hacia el Balón con la MS y arrastró los componentes fitoquímicos (incluido los lípidos). Este vapor se condujo hacia el condensador en donde se convirtió en líquido que fue recepcionado por el decantador tipo pera. Este líquido se disoció en dos fases, quedando el aceite en la superficie por diferencia de densidades. Este proceso se realizó en 2 horas. De este modo, se obtuvo el Aceite Esencial considerado al 100%; se colocó en un frasco de vidrio ámbar y se reservó a 4°C hasta su utilización ¹³.

c) Preparación del medio de cultivo:

Se utilizó agar Mueller-Hinton como medio de cultivo. Se preparó suficiente medio para 10 placas Petri. Este medio de cultivo se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos. Después, se sirvió en Placas Petri estériles de plástico desechables, 18-20 ml por cada placa, y se dejó reposar hasta que solidificó completamente ¹⁴.



d) Prueba de susceptibilidad (Prueba de Disco difusión en agar):

Se evaluó utilizando el método de Kirby-Bauer de disco difusión en agar. Para ello, se consideró los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI de Estados Unidos de América. Se tomó en cuenta los estándares M02-A12 y M100 ¹⁴.

1. Preparación del inóculo

El inóculo se preparó colocando 3-4 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionó una alícuota de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, cultivado hace 18-20 horas, de tal modo que se observó una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml aprox.) ¹⁴



2. Siembra del microorganismo

Se sembró la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, embebiendo un hisopo estéril en el inóculo y deslizándolo sobre toda la superficie del medio de cultivo en las Placas Petri (siembra por estrías en superficie); de tal modo, que el microorganismo quedó como una capa en toda la superficie ¹⁴.



3. Preparación de las concentraciones del AE

A partir del AE, se prepararon 4 concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%) utilizando como solvente Dimetil Sulfóxido (DMSO); para ello, se rotularon 4 tubos de ensayo de 13x100mm estériles con las 4 concentraciones y se colocó 750 μ L de AE y 250 μ L de DMSO al tubo de 75%, 500 μ L de AE y 500 μ L de DMSO al tubo de 50%, y 250 μ L de AE y 750 μ L de DMSO al tubo de 25% ¹⁴.



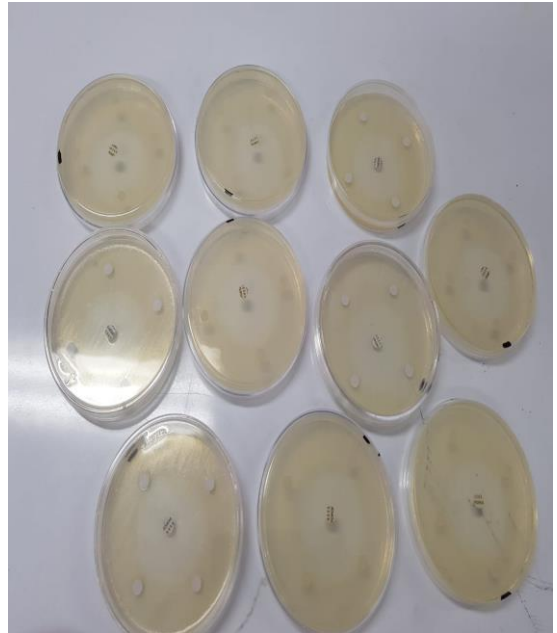
4. Preparación de los discos de sensibilidad con AE

A partir de cada una de las concentraciones, se colocó 10 μ L en cada disco de papel filtro Whatman N° 1 de 6mm de diámetro, previamente esterilizados. Se tomó 10 μ L de AE al 25% y se colocó en un disco, 10 μ L de AE al 50% en otro disco, 10 μ L de AE al 75% en otro disco y 10 μ L de AE al 100% en otro disco. Esto se repitió por 10 veces ¹⁴.



5. Confrontación del microorganismo con el agente antimicrobiano

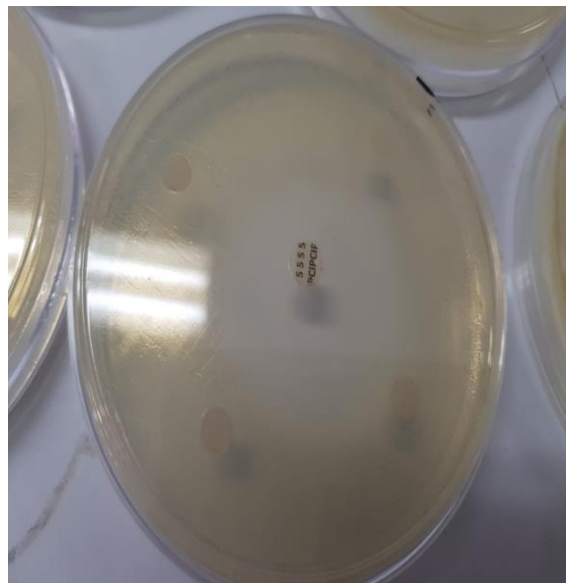
Con la ayuda de una pinza metálica estéril, se tomaron los discos de sensibilidad preparados, uno de cada concentración con AE, y se colocaron en la superficie del agar sembrado con la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, de tal modo que quedaron los discos (uno de cada concentración) a un cm del borde de la Placa Petri y de forma equidistante.



Adicionalmente, se colocó el disco con oxacilina (control positivo). Se dejaron en reposo por 15 min y después las placas se incubaron de forma invertida en la estufa a 35-37°C por 18-20 horas ¹⁴.

6. Lectura e interpretación

La lectura se realizó observando y midiendo con una regla Vernier, el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento microbiano. Esta medición se realizó para cada una de las concentraciones de AE de la hoja de *Rosmarinus officinalis* “romero” y para la oxacilina. Se interpretó como sensible o resistente, según lo establecido en el Estándar M100 del CLSI ¹⁴.



ANEXO N°03

Ficha de recolección de datos para medir el tamaño de los halos de inhibición sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Patógeno <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Concentración del aceite esencial <i>Rosmarinus officinalis</i>				Control positivo	Control negativo
	100%	75%	50%	25%	Oxacilina	Suero Fisiológico
Repetición 1	7	7	7	0	30	0
Repetición 2	7	7	7	7	30	0
Repetición 3	9	7	6	0	29	0
Repetición 4	10	7	0	0	30	0
Repetición 5	8	8	8	7	34	0
Repetición 6	9	7	6	7	29	0
Repetición 7	7	8	7	0	30	0
Repetición 8	8	8	7	7	30	0
Repetición 9	10	8	7	0	32	0
Repetición 10	7	7	8	0	29	0

ANEXO N°04

VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

ÍTEM	CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LA VALIDEZ				CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS ESPECÍFICOS							
	CONTENIDO <i>(Se refiere al grado en que el instrumento refleja el contenido de la variable que se pretende medir)</i>		CONSTRUCTO <i>(Hasta donde el instrumento mide realmente la variable, y con cuanta eficacia lo hace)</i>		RELEVANCIA <i>(El ítem es esencial o importante, es decir, debe ser incluido)</i>		COHERENCIA INTERNA <i>(El ítem tiene relación lógica con la dimensión o el indicador que está midiendo)</i>		CLARIDAD <i>(El ítem se comprende fácilmente, es decir, sus sintácticas y semánticas son adecuadas)</i>		SUFICIENCIA <i>(Los ítems que pertenecen a una misma dimensión bastan para obtener la dimensión de esta)</i>	
	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO
1	✓		✓		✓		✓		✓		✓	
2	✓		✓		✓		✓		✓		✓	
3	✓		✓		✓		✓		✓		✓	

CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS GENERALES				SI	NO	OBSERVACIÓN
El instrumento contiene instrucciones claras y precisas para responder la ficha de cotejos				✓		
Los ítems permiten el logro del objetivo de la investigación				✓		
Los ítems están distribuidos en forma lógica y secuencial				✓		
El número de ítems es suficiente para recoger la información. En caso de ser negativa la respuesta sugiera los ítems a añadir				✓		
VALIDEZ						
APLICABLE	✓	NO APLICABLE		APLICABLE TENIENDO EN CUENTA OBSERVACIÓN		

Instrumento validado por:


Dr. Jorge Minchola Gullardo
 CBP 5352

Firma y sello


MSc. Carlos E. Quiroz Moreno
 CBP 1498


BLGA CYNTHIA MERCEDES PERALTA
 CBP 11137

Firma y sello

ANEXO N°05

Pruebas Post-Hoc para comparar el aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* “romero” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con oxacilina

Comparaciones múltiples

(I) Diluciones		Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
100%	75%	0.800	0.952	0.916	-1.90	3.50
	50%	1.900	0.952	0.284	-0.80	4.60
	25%	5.400*	0.952	0.000	2.70	8.10
	Oxacilina	-22.100*	0.952	0.000	-24.80	-19.40
75%	100%	-0.800	0.952	0.916	-3.50	1.90
	50%	1.100	0.952	0.776	-1.60	3.80
	25%	4.600*	0.952	0.000	1.90	7.30
	Oxacilina	-22.900*	0.952	0.000	-25.60	-20.20
50%	100%	-1.900	0.952	0.284	-4.60	0.80
	75%	-1.100	0.952	0.776	-3.80	1.60
	25%	3.500*	0.952	0.005	0.80	6.20
	Oxacilina	-24.000*	0.952	0.000	-26.70	-21.30
25%	100%	-5.400*	0.952	0.000	-8.10	-2.70
	75%	-4.600*	0.952	0.000	-7.30	-1.90
	50%	-3.500*	0.952	0.005	-6.20	-0.80
	Oxacilina	-27.500*	0.952	0.000	-30.20	-24.80
Oxacilina	100%	22.100*	0.952	0.000	19.40	24.80
	75%	22.900*	0.952	0.000	20.20	25.60
	50%	24.000*	0.952	0.000	21.30	26.70
	25%	27.500*	0.952	0.000	24.80	30.20

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Fuente: reporte de resultados SPSS Versión 25